

中国海原绿球藻研究

焦念志 杨燕辉

(厦门大学环境科学中心, 海洋科学教育部重点实验室, 厦门 361005. E-mail: jiao@xmu.edu.cn)

摘要 原绿球藻是一种极特殊的海洋超微型放氧光合自养原核生物。其细胞极小、色素组成独特、分类和进化地位颇具争议、极具挑战性。它在大洋中分布广泛且数量极大, 具有重要的生态功能, 并与资源环境问题关系密切。因此, 自从原绿球藻被发现以来就引起海洋科学家的浓厚兴趣, 并在过去 10 年中开展了全球范围的调查研究。经过历时 8 年的研究, 发现并确认了原绿球藻在中国海区的存在, 查明其大量分布于中国南海和东海外海, 并季节性分布于黄海东南部; 调查了其在中国海区分布的数量变动及其影响因素; 研究了原绿球藻的生理生态学特征及其与其他超微型生物间的关系; 探讨了原绿球藻的生态地位和对资源环境问题的重要性等。今后, 应对原绿球藻在中国海区不同生态系统中的生态作用以及中国海区原绿球藻纯系的分离培养、生理特性、遗传多样性、系统进化、基因资源开发等方面继续深入研究。

关键词 原绿球藻 二乙烯基叶绿素 超微型浮游生物 生态学 中国海

海洋原绿球藻(*Prochlorococcus*)是迄今发现的地球上最小的放氧型光合自养原核生物。它不仅细胞极小(0.6~0.7 μm), 而且具有独特的色素组成^[1~3], 是目前发现的惟一以二乙烯基叶绿素(divinyl-chlorophyll a, b)作为主要光合色素的野生型物种, 由于这种色素的吸收光谱峰值比正常叶绿素吸收峰值红移约 8~10 nm, 因此其更能有效利用真光层底部微弱的光进行高效的光合作用。原绿球藻色素组成的独特性还在于它同时具有叶绿素 b 和 α -胡萝卜素, 而通常认为原核生物是不能合成 α -胡萝卜素的。有的原绿球藻株系中还含有藻红素^[3]。这套色素系统使原绿球藻既不同于其他两种原绿藻(*Prochlorothrix* 和 *Prochloron*, 含 β -胡萝卜素, 不含藻红素), 又与传统知识体系对原核、真核藻类的色素系统的认识有差别, 因此原绿球藻的发现对传统的细胞色素系统进化的认识提出了挑战。另外, 分子生物学方面的研究表明, 原绿球藻某些株系的 *rbcL* 基因(对应于核酮糖二磷酸羧化-氧化酶 Rubisco 的大亚单位)与某些蛋白细菌的相似程度很高^[4]。研究还发现, 原绿球藻的某些株系缺少编码 NO_3^- -N 还原酶的基因, 因此不能利用 NO_3^- -N^[5]。这些特殊的生理和遗传特征使得原绿球藻在系统进化和分类地位上极具争议。

原绿球藻在自然海区分布的数量极大(通常可达 10^5 细胞/mL), 是迄今发现的丰度最高的光合自养生物。它广泛分布在南北纬 40° 之间的各大洋的表层到真光层底部, 是这些海区自养生物中细胞数量上的

绝对优势种。不仅如此, 原绿球藻还是生物量和初级生产力的主要贡献者。在大西洋马尾藻海, 年平均总叶绿素生物量的 30%和总初级生产力的 25%由原绿球藻提供^[6]; 在北太平洋, 原绿球藻提供了 200 m 水柱积分碳(C)生物量的 35%^[7]; 在赤道太平洋中部, 原绿球藻占总光合生物量的 27%~41%^[8]; 在地中海原绿球藻占叶绿素生物量的比例也在 31%^[9]。除了在上述海区大量分布外, 原绿球藻实际的分布范围可以达到北纬 60° 的亚极地海^[10]以及边缘海甚至海湾中, 如地中海、红海和中国东海广阔的陆架^[9, 11~13]。通过细胞周期分析发现, 原绿球藻的细胞分裂速率为每天 1 次左右^[14~17], 有时甚至高达每天 1.4 次^[18], 表明它的种群内禀增长率极高, 每天都为它所在的生态系统提供大量的有机碳。原绿球藻广泛的分布范围、极大的细胞数量和生物量以及极快的生长率使其在全球 C 和其他生源要素循环中具有不可忽视的地位, 同时也是资源环境乃至全球气候变化等问题研究中不可忽视的物种。

然而原绿球藻研究工作的开展是很不平衡的, 主要是受到观测方法和研究手段上的限制。早期对原绿球藻的研究仅限于国际上几个著名的实验室, 而研究的区域也大多是海水清洁、生物组成相对简单的大洋海区。有些重要问题尚未明了, 如什么因素阻止了原绿球藻在近岸海区的分布? 这极大地限制了在全球海洋范围内对原绿球藻的生理生态、株系组成、分布格局及调控机制的理解。中国海域面积广阔,

有着世界上最宽广的陆架海和最深的边缘海,从南海到渤海跨越热带、亚热带和温带,是太平洋的重要边缘海.在中国海区开展原绿球藻的生态学研究对于了解中国海洋生物资源的结构、海洋生态系统在物质循环和环境变化中的作用和形成有关原绿球藻全球海洋范围上的知识构架均具有重要意义.我们自1994年起就开始研究中国各海域的原绿球藻,对其在中国海区的分布、与其他几类超微型生物的关系及其在生态系统中作用等方面的研究取得了一系列成果.

1 中国海原绿球藻的发现

早在1984年, Takahashi 和 Hori^[19]在一次浮游植物组成分析的电子显微镜观察中记录到中国南海70 m层的优势种是一种大小在0.6~0.9 μm ,具紧密排列的5~7层类囊体的原核细胞.从其细胞结构上看,实际上就是几年后由美国麻省理工学院 Chisholm 实验室发现(1988)并命名(1992)的原绿球藻^[1,2].但由于当时人们并未意识到这是一类具有重要生态意义的新物种, Takahashi 和 Hori 把它归为 Johnson 等^[20]发现的II型聚球藻^[20].遗憾的是,在1994年焦念志等开始对中国海区原绿球藻进行研究以前,南海发现的这一优势种一直未得到应有的重视.原绿球藻在中国海区有分布的最初确认是用高效液相色谱法(HPLC)在东海检测到了原绿球藻的特征色素——二乙烯基叶绿素的存在^[21](图1,所示为二乙烯基叶绿素a和正常叶绿素a酸化后的相应脱镁衍生物的吸收

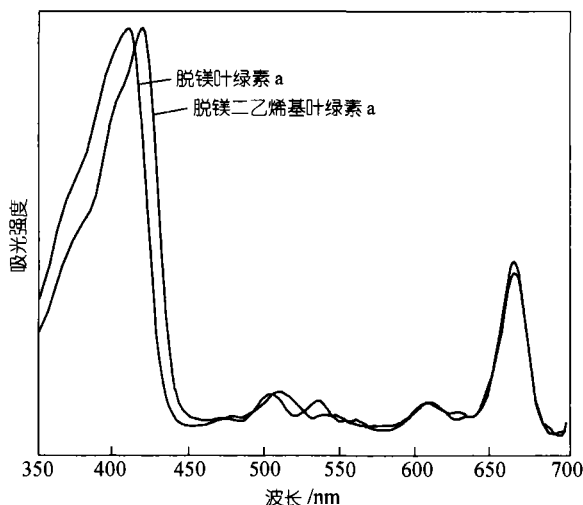


图1 高效液相色谱分离的原绿球藻特征色素二乙烯基叶绿素及正常叶绿素酸化后的脱镁色素的吸收谱线
注意脱镁二乙烯基叶绿素在蓝光波段吸收峰的红移现象

光谱,这是因为酸化后的色素分离效果较好).此后,又进一步采用经光路、光电转换信号优化处理的流式细胞仪进行研究,通过用0.47 μm 标准荧光小球(Polyscience公司,美国)进行内参定位、考察细胞前向散射光、侧向散射光、红色荧光(叶绿素荧光)和橙色荧光(藻红素荧光)等参数对微型生物进行分析,直接观测和计数到原绿球藻与其他超微型生物类群(图2),才最后确认原绿球藻在中国海区的大量存在^[22].

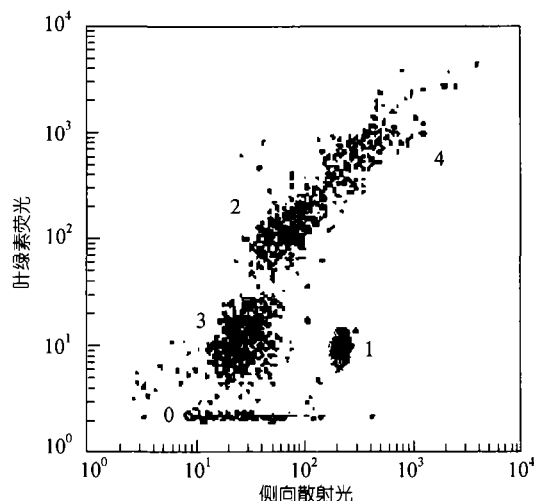


图2 流式细胞仪检测的超微型浮游生物
0示噪音,1示标准荧光小球,2示聚球藻,3示原绿球藻,4示超微型真核浮游植物

2 原绿球藻在中国海区的分布界限和格局

(i) 分布界限. 在1994~2001年的8年时间里,我们共对中国四大海区——渤海、黄海、东海、南海及毗邻的近岸水域如胶州湾、芝罘湾、珠江口等进行了共计40余航次的现场调查.其中南海、东海和黄海的大型航次共9次,调查站位248个次,调查区域覆盖了中国海的绝大部分区域.通过这些详尽的调查,认定原绿球藻在中国海区的分布范围是:南海,除近岸外全部海区;东海,大部分海区;黄海,小部分海区;渤海:无分布.原绿球藻在中国海区分布的北界为黄海南部(图3),夏季可达50 m等深线(图3中的虚线a),冬季退至黑潮主流及影响区域(图3中虚线b).

(ii) 数量分布. 从南沙海区到珠江口和台湾海峡南端,原绿球藻在南海的丰度在 $10^4 \sim 10^5$ 细胞/mL之间(150 m水层内积分平均值),最高值出现于巴士海峡南部.原绿球藻在东海分布的丰度变化很大,从近岸到外海逐渐增高,最高值出现在夏季黑潮南部

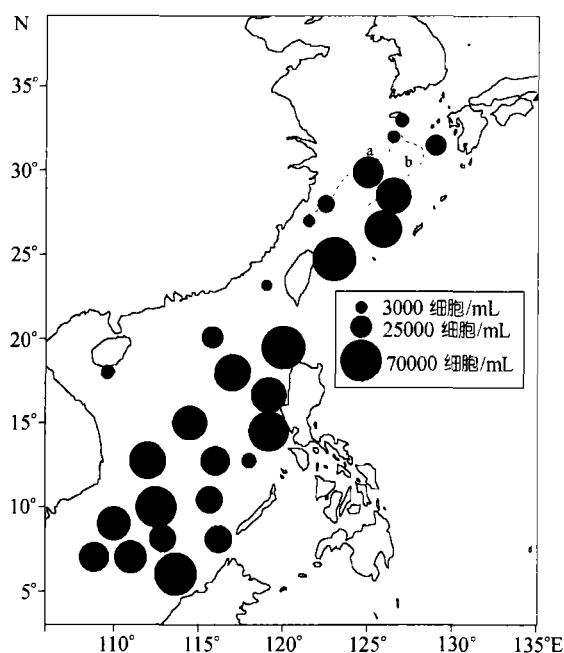


图 3 原绿球藻在中国海分布的范围和数量(丰度为真光层积分平均值)

a 示夏季分布边界, b 示冬季分布边界

区域, 可达 9.8×10^4 细胞/mL (150 m 水层内积分平均值)。原绿球藻细胞丰度的水层积分平均值分布如图 3 所示。

(iii) 垂直分布。在东海陆架区原绿球藻的分布最大深度在 50 ~ 100 m, 在黑潮和南海主要海区最深可达 150 m。原绿球藻垂直分布的剖面曲线大体可分为 3 种显著不同的类型(图 4)。第 1 种类型如东海 905

站(122° E, 26.5° N, 图 4(a)), 其特点为丰度在表层最大, 向下逐渐减少。这种类型常见于原绿球藻分布的边缘水域或不同海流或水团相互作用的水域以及上升流区(如南沙海区的西北部)。第 2 种类型如南海的 211 站(120° E, 17.5° N, 图 4(b)), 其突出特征是丰度极大值存在于表层以下(通常在 50 m 左右)。这种类型常见于温跃层发达的热带、亚热带海域, 是典型的贫营养海区原绿球藻垂直分布的特征。第 3 种类型如位于黑潮水域的东海 206 站(128.5° E, 29° N, 图 4(c)), 其特点是垂直分布无明显的最大值层或最大值峰形跨度大。这种类型常见于强大的暖流区(如黑潮、台湾暖流区)以及垂直混合良好的海域。

(iv) 季节分布差异。在南海季节分布差异不明显, 而在东海则非常显著(图 3)。这种差异的原因主要在于海流/水团活动和温度变化。如在东海冬季, 原绿球藻的分布主要限于黑潮及周边水域, 而夏季的分布区域则覆盖了大部分陆架海区, 其分布边界扩至近长江口。另外, 营养盐、痕量金属乃至生物间的相互作用均可能对原绿球藻的分布和季节变动有制约或调节作用(数据未发表)。

3 中国海区原绿球藻与其他几类超微型生物间的关系及有关生理生态学

海洋环境中已知的超微型生物除原绿球藻外还有聚球藻(*Synechococcus*), 超微型真核浮游植物(pico-eukaryotes)、异养细菌(heterotrophic bacteria)等类群。我们运用先进的流式细胞技术对这 4 类主要超微型生物进行了同步监测, 发现原绿球藻与另外 3 类超微

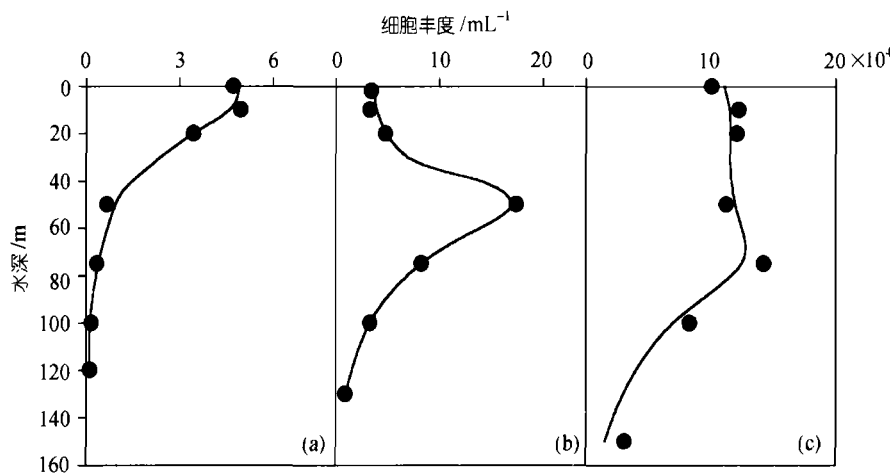


图 4 原绿球藻在中国海区的 3 种典型的垂直分布类型

(a) 东海 905 站(122° E, 26.5° N), (b) 南海 211 站(120° E, 17.5° N), (c) 东海 206 站(128.5° E, 29° N)。图中曲线示中国海区原绿球藻垂直分布的典型特征

型生物间存在着复杂有趣的关系^[23]。

在较大尺度上,浮游植物与异养细菌之间通常呈正相关关系,浮游植物供给异养细菌有机碳源,异养细菌供给浮游植物无机营养盐,两者之间是相辅相成的关系。但光合自养的原绿球藻与异养细菌之间的关系却不这么简单。两者沿营养梯度的变化趋势通常呈负相关关系(图5),当原绿球藻减少时,其生态位逐渐被异养细菌所替代。分子生物学证据表明,原绿球藻某些株系的 *rbcL* 基因与某些蛋白细菌的相似程度很高^[4]。生理学实验也证明原绿球藻可利用有机磷作为主要磷源(Moore 和 Chisholm, 个人交流信息)。

尽管原绿球藻被划归为原绿藻类(prochlorophyte),但它与另外2类原绿藻 *Prochloron*(海水,共生)和 *Prochlorothrix*(淡水,自由生存)在生态环境的需求、

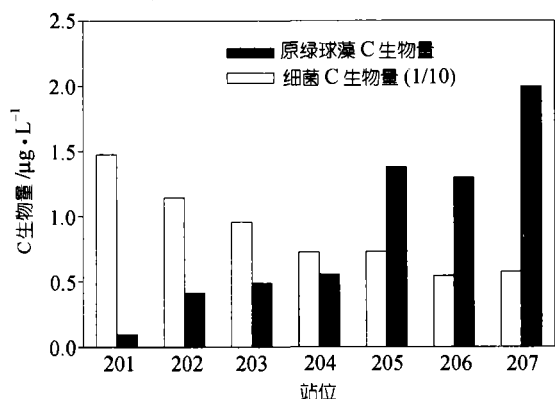


图5 东海黑潮流域原绿球藻与异养细菌的生物量变化关系
 站位 207(128° E, 28.5° N)至 201(129° E, 31.5° N)沿黑潮依次由南向北
 均匀分布

形态、生理生态特征上的距离比与聚球藻的要远。原绿球藻与聚球藻在系统发生上最接近,而且两者之间在生理生态和自然分布特征等方面也有相似之处:它们都是放氧原核自养生物,有的原绿球藻株系甚至有藻胆素(phyco bilin)^[3],而且两者均是大洋超微型自养生物的主要成员。然而,两者在生理和生态特性上也有很大不同,如在生态位上有明显的分化,通常聚球藻对光要求要高于原绿球藻,因而两者在真光层的分布有明显的互补性,即聚球藻主要分布在真光层表层,而原绿球藻在真光层中下部也能大量分布。原绿球藻在南海和东海黑潮区的分布最深可达150 m,而聚球藻从未达到过真光层底部(图6)。在生理上,原绿球藻和聚球藻对营养盐的要求也很不一样。通常聚球藻比原绿球藻对营养盐的要求高,而且对N营养盐变化的响应更迅速和明显,而原绿球藻的某些株系甚至不能利用 NO_3^- -N^[5]。图6是南海的一个实例。32站(112.9° E, 8.1° N)和36站(111.7° E, 6.7° N)两站位的环境条件基本一样,但32站50 m以上的 NO_3^- -N处于检测限以下,而36站上层的 NO_3^- -N在0.5 μmol 左右。这种差别使得原绿球藻、聚球藻的生物响应很不一样。聚球藻在36站数量很高,其极大丰度值为 3.9×10^3 细胞/mL,而在32站却很少,只有 4.2×10^2 细胞/mL,两者相差近10倍,而原绿球藻不论在细胞丰度还是垂直分布形状上差别都不显著。

超微型真核浮游植物包括若干真核浮游植物种。由于种群演替和地区差异,不同调查时间、不同海区所面对的主要超微型真核浮游植物种类组成及其生

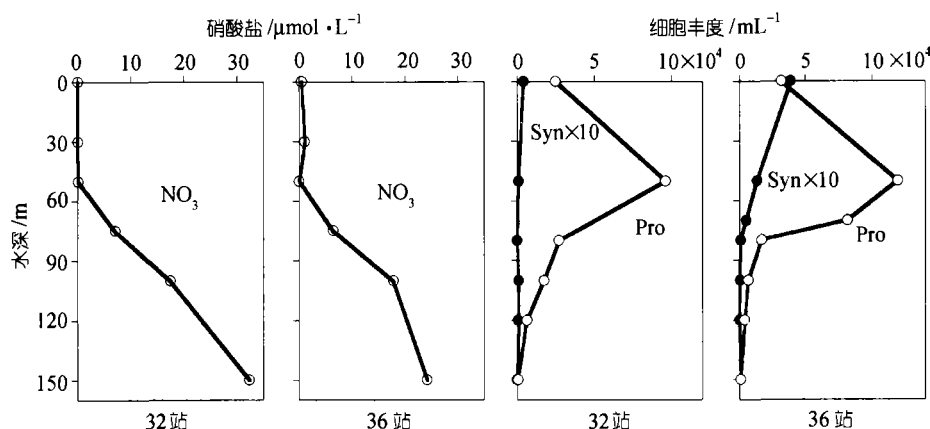


图6 南海32站(112.9° E, 8.1° N)和36站(111.7° E, 6.7° N)的营养状况与生物分布
 聚球藻和原绿球藻对 NO_3^- -N 的不同响应及分布水层的分化。Syn 示聚球藻, Pro 示原绿球藻

态特性有所不同, 其与原绿球藻的关系也不能一概而论, 但至少可归纳出若干共性, 如超微型真核浮游植物比原绿球藻更喜高营养盐、不怕低温、可分布到原绿球藻相当的深度等, 但超微型真核浮游植物的丰度通常比原绿球藻少 2 个数量级。

实验研究表明, 原绿球藻对营养扰动的响应和对环境的适应能力与其他超微型浮游植物也很不一样。1997 年冬和 1998 年夏在南海的现场培养实验中, 聚球藻和超微型真核浮游植物的生长对 N 和 Fe 有较高的需求, 而 Co 和 P 的添加对原绿球藻更有利。此外, 原绿球藻还表现出与异养细菌相似的营养需求。尽管原绿球藻对极贫营养环境有极强的适应能力, 但它对环境变化的适应能力看来不如另外 3 类超微型浮游生物。通常培养实验中受“瓶子效应”(bottle effects)影响最大的是原绿球藻。在自然界中, 温度是影响原绿球藻分布范围和数量的主要环境因子^[24], 尽管原绿球藻的高丰度总是与高水温相伴, 但将培养水温由真光层底部的 21℃提高到表层的 29℃(南海 43 站, 110° E, 6° N, 1997 年 11 月), 最受益的是异养细菌, 但在异养细菌大量繁殖后原绿球藻的生长则受到负影响¹⁾。

4 原绿球藻在中国海的生态地位

在东海和南海有原绿球藻分布的水域, 除在其分布边界与沿岸水系混合的很小的范围内, 原绿球藻一般都是自养生物数量上的优势种。在广阔的外海海域, 原绿球藻的数量一般比聚球藻高 1 个数量级, 比超微型真核浮游植物高 2 个数量级。不仅如此, 与其他海区一样, 在中国海大部分区域, 原绿球藻也是超微型自养生物中 C 生物量的主要贡献者。表 1 是根据国际上比较普遍使用的海洋超微型浮游生物细胞 C 转换系数^[10,25]换算的东海和南海的 3 类超微型浮游植物的 C 生物量及其对生态系统的贡献。需要说明的是, 这只是一个粗略的估计。尤其对于陆架和近岸海域来说, 由于超微型真核浮游植物的种类组成与外海相比变得更加复杂, 采用单一转换因子可能会造成一定的偏差, 但表 1 仍能给我们提供重要的信息, 即在东海和南海的大部分海域原绿球藻是超微型浮游植物生物量的重要贡献者。由于超微型浮游植物在中国海区占有重要地位(超微型浮游植物占总叶

绿素的比例在东海近岸约 20% ~ 30%, 在东海外海约 40% ~ 55%, 在南海外海约 46% ~ 89%, 本研究数据), 原绿球藻对东海和南海总自养生物量的贡献不言而喻。

表 1 中国海超微型浮游植物的 C 生物量以及各组分的相对贡献^{a)}

		Syn		Pro		Euk	
		C(μg/L)	含量/%	C(μg/L)	含量/%	C(μg/L)	含量/%
近海		0.4~4.0	3.4~31.2	0.0~1.0	0.0~8.0	0.9~12.3	7.5~96.6
东海	黑潮 流域	0.5~2.1	16.5~64.7	1.2~2.0	35.8~61.9	0.6~0.7	16.7~21.1
南海	海盆	0.3~0.4	8.4~11.1	1.6~2.8	44.3~79.8	0.5~1.5	13.5~43.1

a) Syn, 聚球藻; Pro, 原绿球藻; Euk, 超微型真核生物

原绿球藻在中国海区重要的生态地位和作用还表现在其高增长速率。自然海水中原绿球藻的细胞周期与光周期耦合得较好, 因此可以通过研究其细胞周期分布来直接测算其细胞的分裂速度^[14~17]。这种方法与一般采用的放射性标记物法相比有以下优点: (i) 不涉及培养, 因此可以避免培养过程所产生的人为误差^[26~29]; (ii) 排除了摄食者的干扰; (iii) 可以考察浮游植物群落中某一特定种的生长率, 但同位素标记法无法做到种的水平。细胞周期法研究的结果表明, 通常原绿球藻的细胞分裂周期为 24 h, 不同水层原绿球藻细胞周期的开始时间不同^[15], 原绿球藻的细胞分裂速率为每天 0.7 ~ 1 次^[14~17]。其他方法如原核细胞抑制剂法也得出类似的结果^[30]。我们在中国南海南沙群岛海区用细胞周期法测算的叶绿素最大层原绿球藻的细胞分裂速率为每天 0.72 次²⁾(图 7), 与其他海区的数据接近。如此高的生长率和基本不变的细胞丰度表明原绿球藻被浮游动物(主要是鞭毛虫、纤毛虫等小型原生动物)捕食、病毒裂解等消费者所平衡, 可见原绿球藻在海洋真光层营养物质循环和能量流动中扮演着重要角色, 并在资源环境问题中占有特殊地位。

5 展望

(i) 自然生态学方面。鉴于原绿球藻在中国海区重要的生态地位, 对其深入的生态学研究, 如采用新技术和方法精确测定原绿球藻的生物量和生产力等, 将是描述微食物环(microbial food loop)结构和功

1) Jiao N Z, Yang Y H, Harada S, et al. Responses of picoplankton to nutrient perturbation in the South China Sea, with special reference to the coast-ward distribution of *Prochlorococcus*. Acta Botanica Sinica, 2002 (已接受)

2) Yang Y H, Jiao N Z. In situ growth rate of *Prochlorococcus* at the chlorophyll maximum layer in the southern South China Sea: An estimation from cell cycle analysis. Chin J Oceanogr Limnol, 2002, Special Issue (已接受)

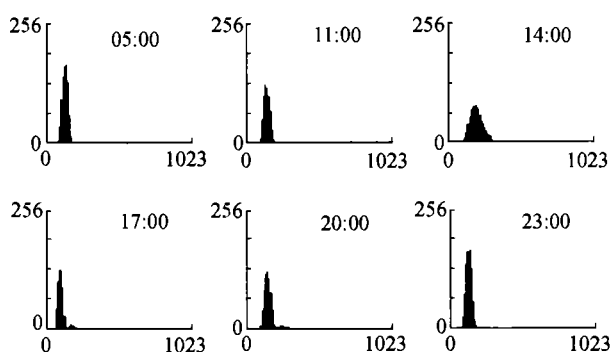


图7 南海43站(110°E, 6°N)75 m层原绿球藻DNA分布的日周期变化

每一小图的横轴和纵轴分别是细胞DNA荧光强度和细胞数量

能的重要基础。结合更广泛的自然生态学调查以及微食物网研究的成果,原绿球藻在中国海区不同生态系统中生源要素循环、能量流动分配途径以及在初级生产、资源环境等问题中的作用和地位可以被更精确地估计,并为生态系统模型的建立提供可靠的数据资料。

(ii) 原绿球藻纯系的分离培养。由于原绿球藻细胞极小、生理特性非常特殊,传统的分离技术显得无能为力。流式细胞技术的分选功能却为此提供了一个有效的手段,但这项工作要求将大型分析分选系统搬到船上进行现场操作。目前,从事这方面研究的国外实验室均能做到这一点,中国也必须走这一步。原绿球藻的培养是一个难题,目前国际上只有几家实验室培养成功,这也是中国原绿球藻研究所必须攻克的难关。只有成功地分离和培养中国各海区的原绿球藻,深入的生理生态学、分子生物学和分类及系统进化包括中国原绿球藻株系(strains)与其他已知株系间的分类关系等方面的研究才会具备坚实的基础。

(iii) 生理生态学方面。原绿球藻有许多特殊的生理生态学特性,如既能够适应于表层的强光环境又能充分利用真光层底部微弱的光进行高效的光合作用;其藻红素结构与已知的蓝细菌藻红素结构均有区别^[3];不同海区和不同水层原绿球藻细胞Chl b/Chl a 比值不同^[31,32];不能吸收 $\text{NO}_3^- \text{--N}$ ^[5]等。在现场实验和自然调查中还发现,对应于营养条件的突然变化,如营养盐可得性提高,细胞的色素含量和光散射信号均有明显变化^[8,33]。中国东海陆架、外海以及南海在水柱的物理化学结构和生物群落结构上存在着非常显著的差异。原绿球藻在中国海区的分布也

跨越了若干不同的气候带和不同的生态环境,如从温带到亚热带、热带,从东海的陆架、黑潮区到南海的海盆以及珊瑚礁区等。即使在同一类型的生态环境中,从表层到真光层底部光、营养盐以及水温、盐度等差别也相当显著。那么,这些差异显著的不同生态环境中生长的原绿球藻在细胞结构和生理生态特性上有何差异?这些问题的深入研究将有助于进一步阐释原绿球藻在海洋生态系统中生源要素循环和资源环境问题中的作用机理。

(iv) 遗传多样性研究。尽管国外学者在这方面已经做了大量的工作,但仍存在许多疑难问题尚待解决。比如遗传多样性的研究发现,不同海区的表层原绿球藻株系的相似性却高于同一海区表层和真光层底部分布的株系^[34]。再如,马尾藻海株系的Chl b_2/a_2 高,而地中海株系低^[31,32],在前者中检测到藻胆蛋白基因^[3],但在后者中却没有。另外,两者的基因组中(G + C)的百分含量也有区别^[33,35]。前述原绿球藻的若干生理生态学特性中有些可能是对环境变化适应的结果,有些则可能是源于株系或亚种水平上的差异。从流式细胞分析图谱上看,在中国东海和南海,至少可区别两类在色素含量或组成上以及细胞大小上有差异的株系。原绿球藻在中国海的分布跨越了6°~32°N,从近岸到大洋都有分布。变化多端的生态环境可能蕴涵着高多样性的原绿球藻株系分布。中国海区这方面的系统研究很可能对全球范围内原绿球藻遗传多样性研究作出重要贡献。

(v) 系统进化研究与基因资源开发。目前,原绿球藻的系统进化地位并未完全明了。虽然被划归为原绿藻,但其细胞结构、色素组成和生态功能上都明显不同于其他已知的原绿藻类。看上去与之亲缘关系密切的聚球藻,也并非与之来自同一个祖先。原绿球藻具有利用有机磷的能力(Moore 和 Chisholm, 个人交流信息)、缺失 $\text{NO}_3^- \text{--N}$ 还原酶编码基因^[5]以及可能存在的与异养细菌之间的生态位部分重叠等特性使得对原绿球藻的系统进化研究更具挑战性。但原绿球藻的特征色素——二乙烯基叶绿素,为叶绿体起源研究提供了一种思路^[32,36]。这方面的深入研究,有可能导致叶绿素生物合成、光合生理和分子进化方面的重大发现。此外,原绿球藻还具有许多难得的基因,对微弱光的适应能力、对极低浓度营养盐的利用能力等优良性状基因将有可能通过转基因工程在其他经济植物上表达,这有着不可估量的前景。

致谢 本工作为国家杰出青年科学基金(批准号: 39625008)、国家自然科学基金(批准号: 49876033, 40176037)和国家重点基础研究发展规划(批准号: G2000078500)资助项目。

参 考 文 献

- Chisholm S W, Olson R J, Zettler E R, et al. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone. *Nature*, 1988, 334: 340 ~ 343
- Chisholm S W, Frankel S F, Goericke R, et al. *Prochlorococcus marinus* nov gen sp: An oxyphototrophic marine prokaryote containing divinyl chlorophyll a and b. *Arch Microbiol*, 1992, 157: 297 ~ 300
- Hess W R, Partensky F, van der Staay G W M, et al. Coexistence of phycoerythrin and a chlorophyll a/b antenna in a marine prokaryote. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 11126 ~ 11130
- Shimada A, Kanai S, Maruyama T. Partial sequence of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the phylogeny of *Prochloron* and *Prochlorococcus* (prochlorales). *J Mol Evol*, 1995, 40: 671 ~ 677
- Moore L R, Post A F, Chisholm S W. Diversity in nitrogen acquisition mechanisms among isolates of *Prochlorococcus*. In: American Society of Limnology and Oceanography, ed. Abstract Book of 2001 Aquatic Science Meeting, Albuquerque, NM. 2001. 100
- Goericke R, Welschmeyer N A. The marine prochlorophyte *Prochlorococcus* contributes significantly to phytoplankton biomass and primary production in the Sargasso Sea. *Deep-Sea Res*, 1993, 40: 2283 ~ 2294
- Campbell L, Liu H, Nolla H A, et al. Annual variability of phytoplankton and bacteria in the subtropical North Pacific Ocean at Station ALOHA during the 1991~1994 ENSO event. *Deep-Sea Res*, 1997, 44: 167 ~ 192
- Binder B J, Chisholm S W, Olson R J, et al. Dynamics of picoplankton, ultraphytoplankton and bacteria in the central equatorial Pacific. *Deep-Sea Res*, 1996, 43: 907 ~ 931
- Vaulot D, Partensky F, Neveux J, et al. Winter presence of prochlorophytes in surface waters of the northwestern Mediterranean Sea. *Limnol Oceanogr*, 1990, 35: 1156 ~ 1164
- Buck K R, Chavez F P, Campbell L. Basin-wide distributions of living carbon components and the inverted trophic pyramid of the central gyre of the North Atlantic Ocean, summer 1993. *Aquat Microb Ecol*, 1996, 10: 283 ~ 298
- Lindell D, Post A F. Ultraphytoplankton succession is triggered by deep winter mixing in the Gulf of Aqaba (Eilat). *Red Sea. Limnol Oceanogr*, 1995, 40: 1130 ~ 1141
- Jiao N Z, Yang Y. Distribution of *Prochlorococcus*, *Synechococcus* and pico-eukaryotes in the East China Sea. *Bulletin de l'institut Oceanographique*, 1999, 19: 435 ~ 442
- Shimada A, Maruyama T, Miyachi S. Vertical distributions and photosynthetic action spectra of two oceanic picophytoplankters, *Prochlorococcus marinus* and *Synechococcus* sp. *Mar Biol*, 1996, 127: 15 ~ 23
- Vaulot D, Marie D, Olson R J, et al. Growth of *Prochlorococcus*, a photosynthetic prokaryote, in the Equatorial Pacific Ocean. *Science*, 1995, 8: 1480 ~ 1482
- Liu H, Nolla H A, Campbell L. *Prochlorococcus* growth rate and contribution to primary production in the Equatorial and Subtropical North Pacific Ocean. *Aquat Microbiol Ecol*, 1997, 2: 39 ~ 47
- Liu H, Campbell L, Landry M R, et al. *Prochlorococcus* and *Synechococcus* growth rates and contributions to production in the Arabian Sea during the 1995 Southwest and Northeast Monsoons. *Deep-Sea Res*, 1998, 45: 2327 ~ 2352
- Liu H, Landry M R, Vaulot D, et al. *Prochlorococcus* growth rates in the central equatorial Pacific: An application of the f_{max} approach. *J Geophys Res*, 1999, 104: 3391 ~ 3399
- Shalapyonok A, Olson R J, Shalapyonok L S. Ultradian growth in *Prochlorococcus* spp. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 1066 ~ 1069
- Takahashi M, Hori T. Abundance of picoplankton in the subsurface chlorophyll maximum layer in subtropical and tropical waters. *Mar Biol*, 1984, 79: 177 ~ 186
- Johnson P W, Sieburth J McN. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnol Oceanogr*, 1979, 24: 928 ~ 935
- Jiao N Z, Chen N H, Ni I -S. Chromatographic evidence of the presence of *Prochlorococcus* in the East China Sea. *Acta Oceanographica Taiwanica*, 2000, 38: 61 ~ 69
- 焦念志, 杨燕辉, Mann E, 等. 中国东海发现原绿球藻的大量存在. *科学通报*, 1998, 43: 654
- 焦念志, 杨燕辉. 四类海洋超微型生物同步监测. *海洋与湖泊*, 1999, 30: 506 ~ 511
- Olson R J, Chisholm S W, Zettler E R, et al. Spatial and temporal distributions of prochlorophyte picoplankton in the North Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res*, 1990, 37: 1033 ~ 1051
- Campbell L, Nolla H A, Vaulot D. The importance of *Prochlorococcus* to community structure in the central North Pacific Ocean. *Limnol Oceanogr*, 1994, 39: 954 ~ 961
- Venrick E C, Beers J R, Heinbokel J F. Possible consequences of containing microplankton for physiological rate measurements. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1977, 26: 55 ~ 76
- Williams P J Leb, Robertson J I. A serious inhibition problem from a Niskin sampler during plankton productivity studies. *Limnol Oceanogr*, 1989, 34: 1300 ~ 1305
- Carpenter E J, Lively J S. Review of estimates of algal growth using carbon-14 techniques. In: Falkowski P, ed. *Primary Productivity in the Sea*. New York: Plenum Press, 1980. 161 ~ 178
- Peterson B. Aquatic productivity and the ^{14}C -CO₂ method: A history of the productivity problem. *Ann Rev Ecol Syst*, 1980, 11: 359 ~ 385
- Liu H B, Campbell L, Landry M. Growth and mortality rates of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* measured with a selective inhibitor technique. *Mar Ecol Prog Ser*, 1995, 116: 277 ~ 287
- Moore L R, Goericke R, Chisholm S W. Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: Influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties. *Mar Ecol Prog Ser*, 1995, 116: 259 ~ 275
- Partensky F, Hoepffner N, Li WKW, et al. Photoacclimation of *Prochlorococcus* sp. (Prochlorophyta) strains isolated from the North Atlantic and the Mediterranean Sea. *Plant Physiol*, 1993, 101: 295 ~ 296
- Zettler E R, Olson R J, Binder B J, et al. Iron-enrichment bottle experiments in the equatorial Pacific: Responses of individual phytoplankton cells. *Deep-Sea Res*, 1996, 43: 1017 ~ 1029
- Scanlan D J, Hess W R, Partensky F, et al. High degree of genetic variation in *Prochlorococcus* (Prochlorophyta) revealed by RFLP analysis. *Eur J Phycol*, 1996, 31: 1 ~ 9
- Urbach E, Scanlan D J, Distel D L, et al. Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light harvesting structures inferred from sequences of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* (cyanobacteria). *J Mol Evol*, 1998, 46: 188 ~ 201
- Rüdischer W, Schoch S. Chlorophylls. In: Goodwin T W, ed. *Plant Pigments*. New York: Academic Press, 1988. 1 ~ 59

(2001-12-03 收稿, 2002-02-21 收修改稿)